

погрешностью, установленной методикой испытаний. Показатель *h* характеризует среднее значение результатов испытаний лабораторий для отдельных видов испытаний по сравнению с другими лабораториями. Превышение *h* своего критического значения говорит о значительном превышении результатов измерений данной лаборатории по сравнению с другими, то есть говорит о наличии систематической погрешности в результатах испытаний. При анализе значений *h* по показателю межлабораторной совместимости Менделя *h* выявлено, что все лаборатории обеспечивают достоверность результатов испытаний с погрешностью, установленной методикой испытаний.

ВЫВОДЫ

1. Разработана инструкция по проведению внутрилабораторных сличений.
2. Внутри- и межлабораторные сличения позволяют определить сходимость результатов испытаний внутри лаборатории и между лабора-

ториями, что в конечном итоге позволяет лабораториям подтверждать свою область аккредитации и повышать доверие к лаборатории со стороны пользователя результатами испытаний.

ЛИТЕРАТУРА

1. Государственная фармакопея СССР XI издания. – выпуск 1. – М. - Медицина. - 1987. – 334с.
2. Панкина Г.В. “Оценка компетентности испытательных лабораторий”//“Конкуренты и партнеры” – 2000г., №3 – С.5-7.
3. Скурихин И.М. “Зарубежный опыт определения профессиональной пригодности аналитических лабораторий”//“Конкуренты и партнеры” – 2000г., №5 – С.43-45.
4. СТБ 941.0-93 “Система аккредитации поверочных и испытательных лабораторий Республики Беларусь. Основные положения”.
5. СТБ 941.6-2000 “Система аккредитации поверочных и испытательных лабораторий Республики Беларусь. Межлабораторные сличения”.

А.И. Бондаренко, А.А. Филанович,
Н.В. Ридевская, А.И. Покачайло

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СЕЛЕНА В ЛЕКАРСТВЕННОМ СРЕДСТВЕ “АНТИОКСИКАПС С СЕЛЕНОМ”

Республиканское производственное унитарное предприятие “Минскинтеркапс”

Селен (от греч. Selene – Луна; лат. Selenium) – химический элемент VI группы периодической системы, относящийся к халькогенам. Селен открыт Й. Берцелиусом в 1817 г. В настоящее время изучено и применяется ряд модификаций этого вещества: селен серый (γ -Se, “металлический”), красный (α -Se – оранжево-красный, β -Se – темно-красный, γ -Se – красный), стекловидный черный, аморфный красный, аморфный кубический и др. [1].

В фармацевтической практике для производства лекарственных средств используется селен серый.

Известно, что селен и его препараты замедляют процесс старения, обладают цитопротек-

торными свойствами, участвуют в регуляции эластичности тканей, способствуют задержке распространения в организме вирусов. В настоящее время селен рассматривают как один из перспективных антиканцерогенных факторов. [2]

Суточная потребность в селене для детей составляет 10-20 мкг, для взрослых – 50-70 мкг, для беременных женщин – 65 мкг, а в период лактации – 75 мкг. В организм ребенка поступает 10-40 мкг селена в сутки при условии среднесуточного потребления материнского молока 1,2 литра. Это особенно важно знать и доводить до сведения населения, поскольку недостаток селена препятствует нормальному усвоению йода (недостаток йода способствует развитию умственной недостаточности, кретинизма и заболеваний щитовидной железы), нарушает деятельность сердечно-сосудистой системы, отрицательно влияет на иммунитет [5].

Источником поступления селена (равно как и йода) в организм человека является пища [3-5].

Диапазон содержания селена в биологических материалах изменяется от 0,01 до 0,6 мкг/г, в почвах – от 0,01 до 0,5 мкг/г, а во многих пищевых продуктах – менее 0,1 мкг/г. Так, результа-

ты исследований содержания селена в различных образцах молочной продукции показали, что наиболее высокая его концентрация в твороге ($14,0 \pm 2,0$ мкг/кг), а в молоке – $3,5 \pm 0,8$ мкг/л, в мясе свинины – $12,4 \pm 1,8$ мкг/кг, говядине – $11,1 \pm 3,1$ мкг/кг. В курином мясе и яйцах содержание селена в 12-15 раз превышает аналогичное в свином и говяжьем мясе. Таким образом, только пищевыми продуктами потребности организма в селене явно не удовлетворяются [3,4]. Поэтому зарубежными и отечественными производителями лекарств разработаны и выпускаются различные лекарственные средства, содержащие селен, например: капсулы “Антиокс”, таблетки “Витрум”, капсулы “Витамаунт”, таблетки “Три-ви-плюс” и многие другие.

Для количественного определения селена в биологических объектах используются различные методы: титриметрический, гравиметрический, спектрофотометрический, атомно-адсорбционный спектрометрический, спектро-флуориметрический, газо-хроматографический с изотопным разбавлением, нейтронно-активационный, масс-спектрометрический с индуктивно-связанной плазмой и др. Однако не всегда эти методы пригодны для определения селена в лекарственных средствах. Так, титриметрические методы не обладают высокой чувствительностью и позволяют определить селен в пробах, содержащих его высокие концентрации, а многие физические методы, указанные выше, длительны, требуют сложной пробоподготовки и дорогостоящего оборудования [7,8,9].

Целью настоящего исследования явилась разработка экстракционно-спектрофотометрической методики количественного определения селена в лекарственном средстве “Антиоксикапс с селеном”. В состав капсулы вводили 0,1 % дрожжевого селена поставки фирмы Kramer & Martin. Для приготовления раствора рабочего стандартного образца (PCO) использовали натрия селенит пентаводный (производитель – компания Merck).

В основу разрабатываемой методики положена способность селена (IV) образовывать с 3,3'-диаминобензидином в щелочной, кислой или нейтральной среде окрашенное в желтый цвет соединение, плохо растворимое в воде. Образующийся дифенилдиפיазоселенол хорошо экстрагируется толуолом [6].

Для отделения дрожжевого селена от со-

держимого капсул изучали возможность применения различных экстрагентов, таких как эфир диэтиловый, хлороформ, гексан, циклогексан, толуол, петролейный эфир. Оказалось, что наиболее полно воск пчелиный, лецитин, β -каротин, токоферола ацетат и масло растительное отделяются последовательным применением в качестве экстрагентов толуола и хлороформа.

В связи с тем, что селен в дрожжах находится в органически связанном состоянии, нами была изучена возможность применения различных минерализующих веществ и способов разрушения этой связи и выделение Se (IV). Для этого исследовали возможность применения концентрированных азотной, хлороводородной, хлорной кислот и их смесей, а также сжигания образца в муфельной печи при температуре около 600°C .

Опыты показали, что наиболее пригодна для выделения селена из дрожжей и исследуемого лекарственного средства смесь концентрированных азотной и хлорной кислот в соотношении 1,5:1. Спектр поглощения исследуемого раствора (1) и раствора PCO (2) после применения минерализующей смеси кислот представлен на рис. 1.

Согласно литературным данным дифенилдиפיазоселенол может образовываться в кислой, нейтральной или щелочной среде. Нами же изучено влияние pH среды на экстракцию полученного соединения из водного раствора толуолом. Для этого выбраны следующие значения pH среды: 2 -3, 8, 10 по универсальной индикаторной бумаге. Спектры полученных толуольных экстрактов из растворов с различным значением pH представлены на рис. 2 и 3.

Спектры поглощения толуольных экстрактов из исследуемых растворов и раствора PCO, полученных из водной смеси с pH=8, представлены на рис. 1.

Таким образом подтверждено, что щелочная среда является наиболее пригодной для экстрагирования дифенилдиפיазоселенола толуолом из водных растворов. Оптимум pH находится в пределах 8.

На основании вышеизложенного можно сделать заключение, что при изучении возможных условий проведения количественного определения селена в “Антиоксикапсе с селеном” можно использовать экстракционно-спектрофотометрический способ, суть которого состоит в следующем.

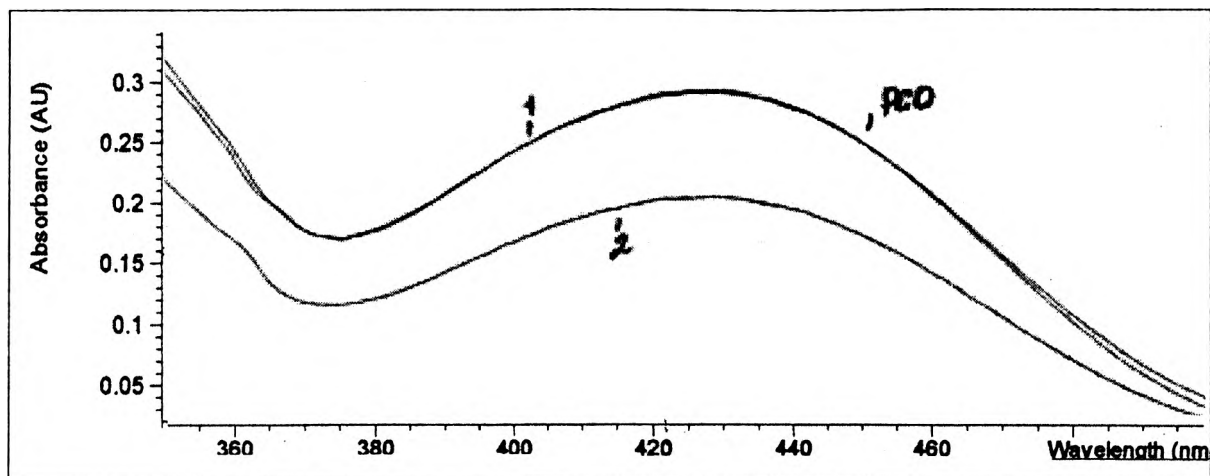


Рис. 1. Спектры поглощения исследуемых растворов (1 и 2) с различной концентрацией селена и раствора PCO после применения для минерализации смеси концентрированных азотной и хлорной кислот (1,5 : 1). pH водной смеси равен 8.

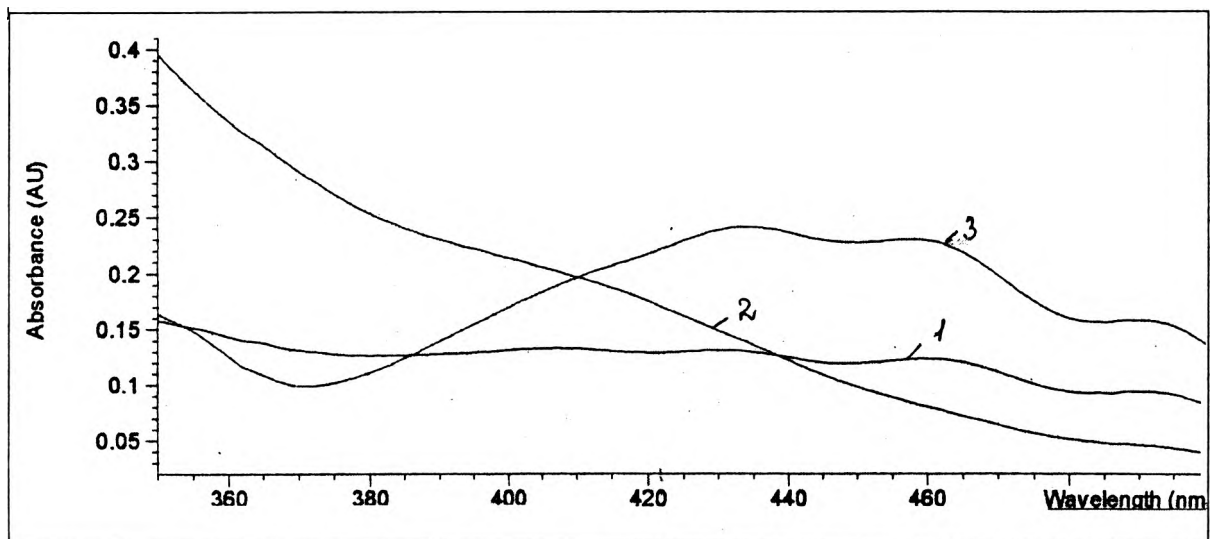


Рис. 2. Спектр толуольного экстракта из исследуемого раствора (1), раствора дрожжевого селена (2) и раствора PCO (3), полученного из водной смеси с pH=2-3.

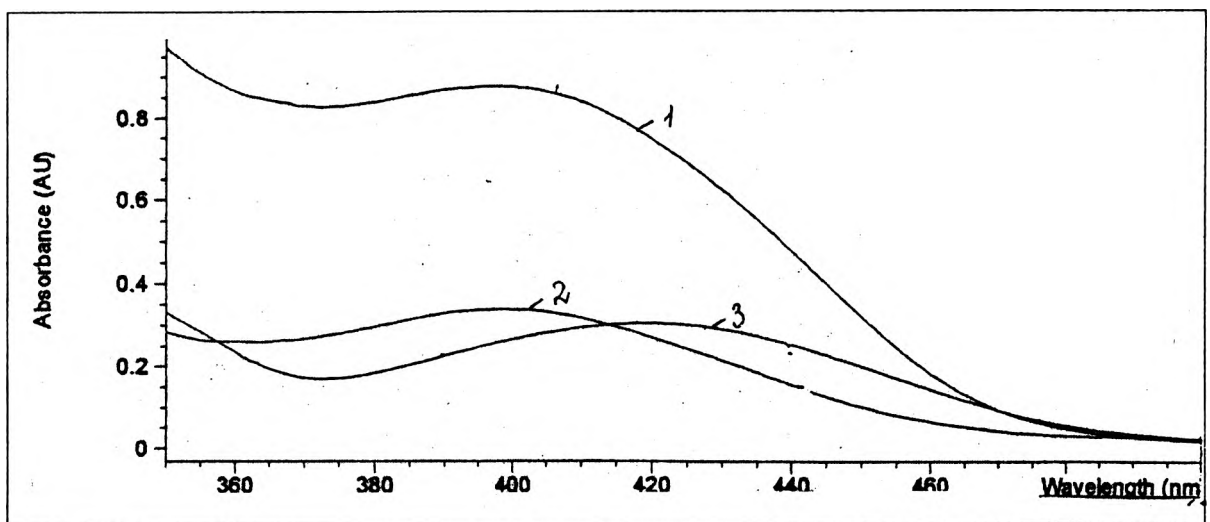


Рис. 3. Спектр толуольного экстракта из исследуемого раствора (1), раствора дрожжевого селена (2) и раствора PCO (3), полученного из водной смеси с pH=10.

МЕТОДИКА

Около 1,5 г содержимого капсул помещают в делительную воронку вместимостью 100 мл, прибавляют 10 мл воды и экстрагируют толуолом трижды по 10 мл. Толуольные экстракты отбрасывают. К водному остатку добавляют 10 мл хлороформа. Встряхивают, отстаивают до разделения слоев. Хлороформный слой отбрасывают. Извлечение повторяют еще 2 раза, используя такой же объем хлороформа. Водный остаток количественно переносят в колбу, прибавляют 15 мл кислоты азотной концентрированной, 10 мл кислоты хлорной концентрированной и порциями 3 мл пергидроля. Смесь оставляют при комнатной температуре на двое суток, периодически перемешивая. Полученный раствор медленно кипятят на плитке до образования “мокрых солей”, затем охлаждают, прибавляют 1-2 капли раствора формальдегида, 2 мл 3 М раствора кислоты хлороводородной и медленно кипятят на плитке до образования “мокрых солей”. К полученному остатку прибавляют 10 мл 3 М кислоты хлороводородной, 1 мл 2,5 % раствора трилона Б, 2 мл кислоты муравьиной (1:9) и доводят водным раствором аммиака (1:1) по до pH=2-3 (розовато-желтая окраска индикатора крезолового красного). Затем прибавляют 2 мл 0,5% свежеприготовленного раствора 3,3'-диаминобензидина в 0,1 М растворе кислоты хлороводородной и оставляют на 60 мин, после чего pH смеси доводят водным раствором аммиака (1:1) до 8 (красновато-фиолетовая окраска индикатора) и переносят в делительную воронку вместимостью 75-100 мл. Далее экстрагируют трижды толуолом по 5-7 мл в течение 1 мин. Толуольные экстракты фильтруют через сухой бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят до метки толуолом (испытываемый раствор).

Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 420 нм в кварцевой кювете с толщиной поглощающего слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют толуол.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора РСО.

Содержание селена (X) в граммах в одной капсуле при использовании в качестве РСО раствора натрия селенита пятиводного рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{A_1 \cdot m_0 \cdot 25 \cdot 10 \cdot 10 \cdot b}{A_0 \cdot m_1 \cdot 250 \cdot 25 \cdot 100} = \frac{A_1 \cdot m_0 \cdot b}{A_0 \cdot m_1 \cdot 250}$$

где A_1 – оптическая плотность испытуемого раствора;

A_0 – оптическая плотность раствора РСО₁;
 m_0 – содержание селена в навеске натрия селенита пятиводного, взятого для приготовления раствора РСО₁, в граммах;

b – средняя масса содержимого 1 капсулы в граммах;

m_1 – масса навески содержимого капсул, взятая на анализ, в граммах.

Содержание селена (X) в граммах в одной капсуле при использовании селена дрожжевого 0,1% рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{A_1 \cdot m_0 \cdot 1 \cdot 25 \cdot b}{A_0 \cdot m_1 \cdot 1 \cdot 25} = \frac{A_1 \cdot m_0 \cdot b}{A_0 \cdot m_1}$$

где A_1 – оптическая плотность испытуемого раствора;

A_0 – оптическая плотность раствора РСО₂;
 m_0 – содержание селена в навеске дрожжевого селена, взятого для приготовления раствора РСО₂, в граммах;

b – средняя масса содержимого 1 капсулы в граммах;

m_1 – масса навески содержимого капсул, взятая на анализ, в граммах.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАСТВОРОВ РСО

1. Приготовление раствора РСО₁ натрия селенита пятиводного. Около 0,08 г (точная навеска) натрия селенита пятиводного (спецификация фирмы “Merck” или аналогичного по качеству), что соответствует 0,024 г в пересчете на селен растворяют в 10-20 мл воды очищенной в мерной колбе вместимостью 250 мл, доводят водой очищенной до метки и перемешивают.

10,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят до метки водой очищенной.

К 10,0 мл полученного раствора прибавляют 15 мл кислоты азотной концентрированной, 10 мл кислоты хлорной концентрированной и 3 мл пергидроля. И далее поступают как описано выше, начиная со слов “...оставляют при комнатной температуре на двое суток”.

Раствор используют свежеприготовленным.

2. Приготовление раствора РСО₂ дрожжевого селена. Около 0,1 г (точная навеска) дрож-

жевого селена 0,1% (спецификация фирмы “Dr. Winfried Behr” или аналогичного по качеству), что соответствует 0,0001 г в пересчете на селен, растворяют в 10 мл воды очищенной, прибавляют 15 мл кислоты азотной концентрированной, 10 мл кислоты хлорной концентрированной и 3 мл пергидроля.

И далее поступают как описано выше, начиная со слов “...оставляют при комнатной температуре на двое суток”.

Раствор используют свежеприготовленным.

Спектры поглощения исследуемого раствора и растворов PCO, полученных по пред-

лагаемой методике, представлены на рис. 4.
Результаты определения количественного содержания селена в антиоксикапсе с селеном по предлагаемой методике представлены в таблицах 1 и 2.
Таким образом, в результате измерения одной и той же величины получены две выборки объема n_1 и n_2 причем $x_1 \neq x_2$, возникает необходимость проверки статистической достоверности гипотезы $x_1 = x_2$.
Метрологические характеристики среднего результата при использовании различных растворов PCO представлены в табл. 3.

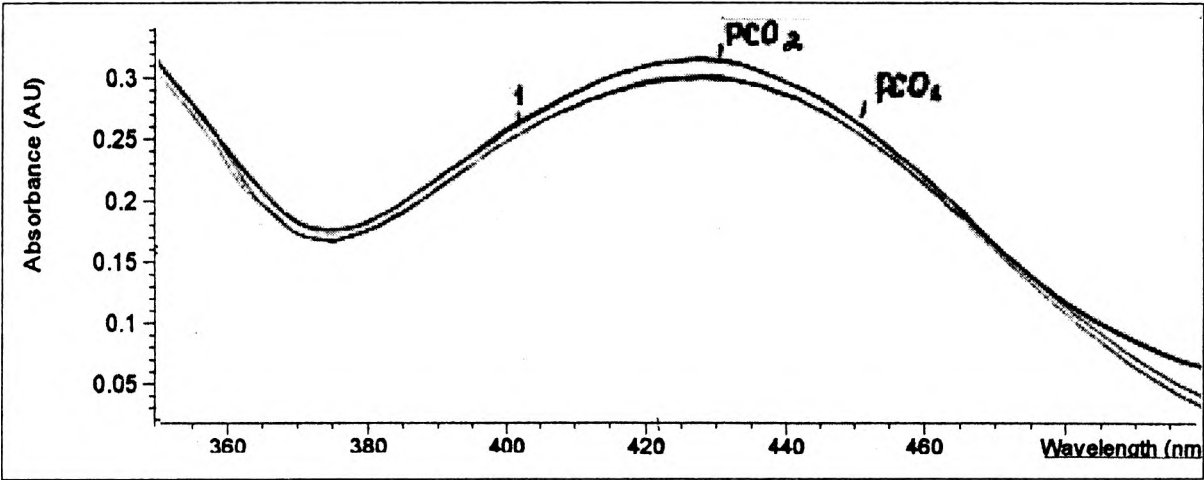


Рис. 4. Спектры поглощения исследуемого раствора и растворов PCO₁ и PCO₂, полученных по предлагаемой методике.

Таблица 1

Результаты определения количественного содержания селена в антиоксикапсе с селеном (PCO₁ – раствор натрия селенита пентаводного)

№ п/п	Введено селена в 1 капсулу, мкг	m, г	A	A ₀	Найдено селена в 1 капсуле, мкг	Метрологические характеристики
1	30,0	1,5025	0,285	0,290	31,5	f=4; \bar{x} =31,2; S ² =0,345; S=0,587; $S_{\bar{x}}$ =0,262; $\Delta\bar{x}$ =0,73; ϵ =2,33%;
2	30,0	1,5029	0,276		30,4	
3	30,0	1,5005	0,280		31,2	
4	30,0	1,5001	0,288		31,9	
5	30,0	1,5000	0,279		30,8	

Таблица 2

Результаты определения количественного содержания селена в антиоксикапсе с селеном (PCO₂ – раствор дрожжевого селена)

№ п/п	Введено селена в 1 капсулу, мкг	m, г	A	A ₀	Найдено селена в 1 капсуле, мкг	Метрологические характеристики
1	30,0	1,5025	0,285	0,293	31,1	f=4; \bar{x} =30,7; S ² =0,355; S=0,596; $S_{\bar{x}}$ =0,266; $\Delta\bar{x}$ =0,74; ϵ =2,41%;
2	30,0	1,5029	0,276		30,0	
3	30,0	1,5005	0,280		30,5	
4	30,0	1,5001	0,288		31,5	
5	30,0	1,5000	0,279		30,4	

Метрологические характеристики среднего результата при использовании различных растворов РСО (1 – опыты с РСО₂ и 2 – опыты с РСО₁)

№ п/п	μ	f	\bar{x}	S ²	S	P, %	t(P,f) табл.	Δx	ε	t _{выч}	F(P,f ₁ ,f ₂) табл.	F _{выч}	S _p ²	S _p	f	t
1	30	4	30,7	0,355	0,596	95	2,78	0,74	2,41	2,63	15,98	1,03	0,14	0,374	8	1,33
2	30	4	31,2	0,345	0,587	95	2,78	0,84	2,33	2,04						

Статистическим анализом установлено, что различие достоверности дисперсий S_1 и S_2 не значимо (вычисленное значение критерия Фишера F меньше табличного).

Так как, расчетное значение критерия Стьюдента меньше табличного ($t_{расч}=1,33$, а $t(P=95\%, f=8) = 2,36$), то нет значимых различий между средними содержаниями селена в исследуемых капсулах, найденными по предлагаемой методике с использованием различных растворов РСО.

Следовательно, при анализе содержания селена растворы рабочих стандартных образцов можно готовить из порошка натрия селенита пятиводного или дрожжевого селена, который используется для приготовления рассматриваемого лекарственного средства.

Таким образом, проведенные исследования позволили установить влияние основных факторов, влияющих на количественное определение селена в антиоксикапсе с селеном, и разработать методику количественного определения селена в этом лекарственном средстве экстракционно-спектрофотометрическим способом.

Погрешность определения селена по предлагаемой методике не превышает 2,41 %.

ЛИТЕРАТУРА

1. Химическая энциклопедия в 5 т.: т. 4: Полимерные – Трипсин / Редкол.: Зефиоров Н.С. (гл. ред.) и др. – М.: Большая Российская энциклопедия. – 1995. – С. 614 – 621.
2. Справочник ВИДАЛЬ: Лекарственные препараты в России. – М.: АстраФармСервис, 1988. – 1600 с.

3. Ермаков В.В., Ковальский В.В. Биологическое значение селена. – М.: Наука. – 1974.
4. Обеспеченность селеном населения Республики Беларусь / С.П. Барков, В.И. Мурох, Н.Д. Коломиец и др. // Матер. междунар конф. "Национальная политика в области здорового питания в Республике Беларусь. – Мн.; 1997. – С. 172-174.
5. Симонова Е.В., Коломиец Н.Д., Мурох В.И. Влияние питания и окружающей среды на минеральный состав грудного молока // Здоровоохранение (РБ). – 2001. – № 3. – С. 21-24.
6. Иванкова А.Н., Блюм Н.А. Определение селена с 3,3'-диаминобензидином // Заводская лаборатория. – 1961. – № 27. – С. 371.
7. Крешков А.П. Основы аналитической химии. Кн. 2. Количественный анализ. – М.: Гос. Научно-технич. Изд-во хим. лит-ры, 1961. – 552 с.
8. Гадаскина И.Д., Гадаскина Н.Д., Филлов В.А. Определение промышленных неорганических ядов в организме. – М.: Медицина. – 1975. – С. 181-192.
9. Бок Р. Методы разложения в аналитической химии. – Л.: Химия. – 1984.

SUMMARY

A.I. Bondarenko, A.A. Filanovich, N.V. Ridevskaya, L.I. Pokachaylo

ASSAY OF SELENE IN DRUG «ANTIOXICAPS WITH SELENE»

Study results established the effect of primary factors determining Assay of Selen in ANTIOXICAPS WITH SELENE.

Assay for Selen in said drug has been developed by extraction/spectrophotometric method.

Precision of identifying Selen under applied method is not more then 2,41%.